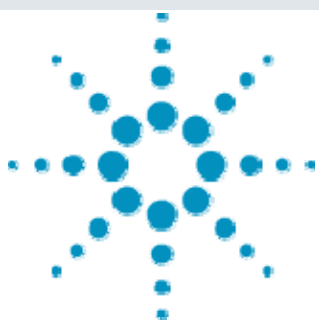




## Agilent 6410 によるイミノクタジン酢酸塩の高感度分析



＜要旨＞ 河川水中イミノクタジン酢酸塩の LC-MS/MS による高感度分析法を検討しました。その結果、LC カラムに HILIC カラムとして ZORBAX RX-SIL を用いた直接注入法により河川水中イミノクタジン酢酸塩の高感度分析が可能でした。また河川水中においても妨害成分の影響なく検出が可能であり検出限界は 0.000006mg/L と管理目標値の 1/1000 でした。

**Key Words:** イミノクタジン酢酸塩、LC-MS/MS、MRM、河川水

\*\*\*\*\*

### 1. はじめに

イミノクタジン酢酸塩(イミノクタジン)は菌体の脂質生合成系を阻害するグアニジン系殺菌剤であり、水質管理目標設定項目(健発第1010004号)に指定され管理目標値は0.006mg/Lに設定されています。検査方法は健水発第1010001号の「別添方法15」に記載され固相抽出または溶媒抽出後、ポストカラム反応槽付きHPLCによるホストカラム誘導体化-蛍光検出法が指定されています。しかし、この方法では測定感度が悪く管理目標値の1/100の測定は困難であり、定量下限値は0.005mg/Lとなっています。一方、LC-MS/MS法は農薬類の高感度分析が可能であり、多くの農薬の分析法に採用されておりイミノクタジンについても誘導体化なく直接、高感度分析が可能です。また、HPLCによる分離ではイミノクタジンは非常に極性が高いことからイオンペア剤を使用しています。LC-MS/MSでは揮発性イオンペア剤を使用することができませんが、揮発性イオンペア剤は装置に残存し易く不向きです。そこで今回、親水性相互作用(HILIC)を利用したシリカゲルカラムによる直接注入-LC-MS/MS法について検討を行いました。また、河川水でのイオン化阻害の補正を目的にサロゲート物質としてイミノクタジン-d<sub>8</sub>を使用しました。

### 2. 装置及び測定条件

分析条件は表.1 に示した通りです。カラムにはシリカカラムを使用し、移動相にはアセトニトリル及び0.1%ギ酸+10mM ギ酸アンモニウムを使用しました。MS条件はイオン源に ESI 法を使用した MRM 法で測定しました。

### 3. 結果及び考察

イミノクタジン及びイミノクタジン-d<sub>8</sub>の質量スペクトルは図.1 に示しましたが、MS1 によるフルスキャン

で観察されたベースピークは2価イオン(M+2H)<sup>2+</sup>でした。従って、これらイオンをプリカーサーイオンとしてプロダクトイオンスキャンを行いました。その結果強度の強いプロダクトイオンを表.1 の通り選択しました。

表.1 イミノクタジンの LC-MS/MS 条件

|               |                                                                |
|---------------|----------------------------------------------------------------|
| LC            | : 1200LC                                                       |
| Column        | : ZORBAX RX-SIL(100mm,2.1mm,1.8µm)                             |
| Mobile phase  | : A: 0.1% $\text{HCOOH}$ +10mM $\text{HCOONH}_4$ , B: ACN 50%B |
| Column temp   | : 40°C                                                         |
| Sample volume | : 5µL                                                          |
| Flow rate     | : 0.2mL/min                                                    |
| MS            | : Agilent 6410 Triple quadrupole LC-MS                         |
| Ionization    | : ESI (positive)                                               |
| Scan range    | : m/z 100-500                                                  |
| Drying gas    | : 10L/min at 350°C                                             |
| Nebulizer gas | : 345kPa                                                       |
| Fragmentor    | : 100V                                                         |

| No  | name                       | MW  | Precursor | Target | Qualifier | CV+ | CVq | R.time |
|-----|----------------------------|-----|-----------|--------|-----------|-----|-----|--------|
| 1   | Iminoctadin                | 353 | 178.8     | 69     | 100       | 20  | 10  | 2.30   |
| I.S | Iminoctadin-d <sub>8</sub> | 361 | 182.7     | 103    | 192       | 10  | 10  | 2.30   |

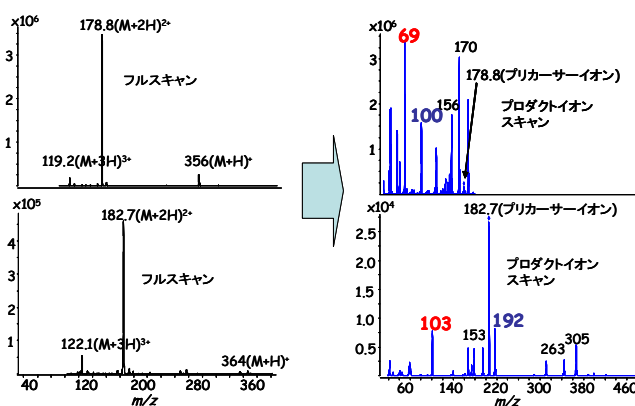


図.1 イミノクタジン、イミノクタジン-d<sub>8</sub>の質量スペクトル(コリジョン電圧:10V)



Agilent Technologies

図.2には0.0001、0.001、0.01及び0.1mg/Lでのイミノクタジン及び各濃度標準液中サロゲート物質であるイミノクタジン-d<sub>8</sub>のMRMクロマトグラムを示しました。その結果、0.0001mg/LでのS/N比(Peak to Peak)は48でした。従ってS/N=10で定義した定量下限値は0.00002mg/Lでした。直線性はサロゲート物質を内部標準とした内部標準法での検量線を図.3に示しましたが0.0001~0.1mg/L範囲での決定係数は0.9994と非常に良好でした。

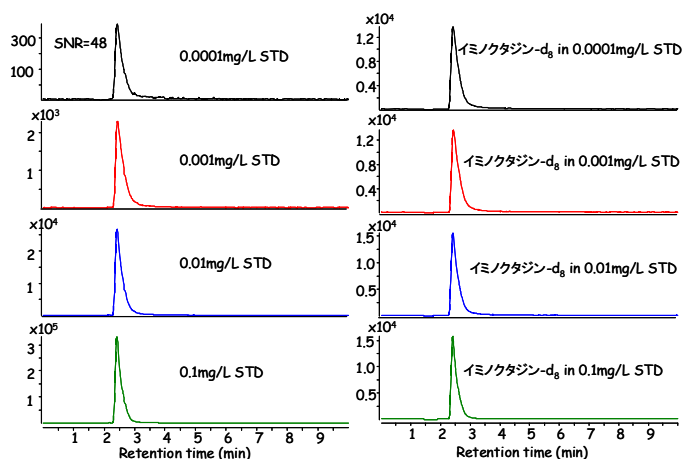


図.2 イミノクタジン、イミノクタジン-d<sub>8</sub>のMRMクロマトグラム(イミノクタジン-d<sub>8</sub>濃度:0.01mg/L)

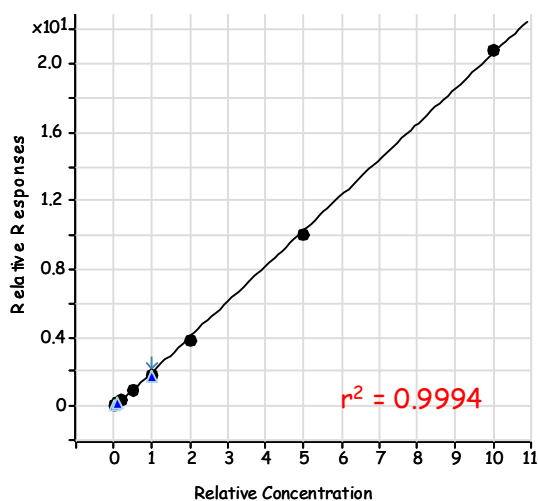


図.3 イミノクタジンの検量線

実試料には河川水を用いましたが、河川水は0.001mg/L相当のイミノクタジン及び0.01mg/Lの「イミノクタジン-d<sub>8</sub>」を添加した試料を0.45μmフィルターでろ過し測定を行いました。この試料を5回測定したMRMクロマトグラムを図.4に示します。結果、河川水においてもイミノクタジンは妨害ピークの影響もなく検出が可能でした。また同一試料を5回測定した際の定量結果は0.00081~0.00087mg/Lであり正確さは81~87%、再現性は相対標準偏差で2.72%と良好でした。

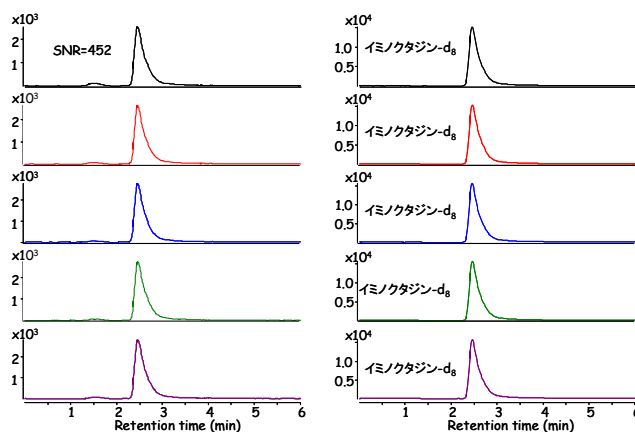


図.4 河川中イミノクタジン、イミノクタジン-d<sub>8</sub>のMRMクロマトグラム(添加濃度:0.001mg/L)

表.3 イミノクタジンの標準液及び河川水中での測定結果

| 試料                 | イミノクタジン |         |          |      |       | イミノクタジン-d <sub>8</sub> |       |
|--------------------|---------|---------|----------|------|-------|------------------------|-------|
|                    | Area    | Conc.   | Accuracy | RT   | Ratio | Area                   | Ratio |
| 0.0001mg/L         | 7478    | 0.00014 | 140      | 2.43 | 82    | 246563                 | 9.8   |
| 0.0002mg/L         | 11902   | 0.00023 | 114      | 2.43 | 83    | 243486                 | 9.6   |
| 0.0005g/L          | 23419   | 0.00045 | 90       | 2.43 | 81    | 249147                 | 9.6   |
| 0.001mg/L          | 42219   | 0.00084 | 84       | 2.44 | 84    | 246919                 | 9.9   |
| 0.002mg/L          | 86193   | 0.00166 | 83       | 2.46 | 84    | 255401                 | 9.9   |
| 0.005mg/L          | 219073  | 0.00435 | 87       | 2.43 | 84    | 249954                 | 9.8   |
| 0.01mg/L           | 446464  | 0.00894 | 89       | 2.42 | 86    | 247934                 | 10.1  |
| 0.02mg/L           | 832399  | 0.01884 | 94       | 2.42 | 87    | 219666                 | 10.1  |
| 0.05mg/L           | 2126081 | 0.04969 | 99       | 2.41 | 87    | 212825                 | 10.0  |
| 0.1mg/L            | 4619189 | 0.10360 | 104      | 2.41 | 93    | 221696                 | 9.9   |
| Kasen BL+0.001mg/L | 41442   | 0.00081 | 81       | 2.46 | 88    | 250574                 | 10.0  |
| Kasen BL+0.001mg/L | 44430   | 0.00085 | 85       | 2.46 | 86    | 256512                 | 10.3  |
| Kasen BL+0.001mg/L | 44463   | 0.00083 | 83       | 2.46 | 85    | 260424                 | 10.2  |
| Kasen BL+0.001mg/L | 44779   | 0.00085 | 85       | 2.46 | 87    | 256990                 | 10.5  |
| Kasen BL+0.001mg/L | 46232   | 0.00087 | 87       | 2.46 | 87    | 260076                 | 10.7  |
| Average            | 44269   | 0.00084 | 84       | 2.46 | 87    | 256915                 | 10.4  |
| STDEV              | 1744.12 | 0.00002 | 2.28     | 0.00 | 1.19  | 3958.73                | 0.27  |
| RSD                | 3.94    | 2.72    | 2.71     | 0.08 | 1.38  | 1.54                   | 2.65  |

#### 4. まとめ

今回、LC-MS/MSを用いた河川水中のイミノクタジンの直接分析法を紹介しましたが、ESI及びMRM法を使用することで煩雑な試料の前処理なく直接注入法で管理目標値の1/100以下での測定が可能でした。また、サロゲート物質にイミノクタジン-d<sub>8</sub>を使用することでイオン化障害の影響なく精度良く正確に測定することが可能でした。

【LCMS-200902TK-001】

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1

www.agilent.com/chem/jp